ARCHIVIO

PER LE

SCIENZE MEDICHE

PUBBLICATO DA

G. BIZZOZERO (Torino) — C. BOZZOLO (Torino) — P. FOÀ (Torino)
C. GIACOMINI (Torino) — C. GOLGI (Pavia) — L. GRIFFINI (Genova)
N. MANFREDI (Pisa) — E. MARCHIAFAVA (Roma) — A. MOSSO (Torino)
L. PAGLIANI (Roma) — E. PERRONCITO (Torino) — E. SERTOLI (Milano)
C. TARUFFI (Bologna) — G. TIZZONI (Bologna)

E DIRETTO DA

G. BIZZOZERO

Estratto

TORINO E PALERMO
CARLO CLAUSEN

FIRENZE - ERMANNO LOESCHER - ROMA

1893

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XVIII. N. 17.

Istituto di Patologia della R. Università di Torino.

SULLA COMPARSA DEI GLOBULI ROSSI NUCLEATI NEL SANGUE

DEL

Dott. Costanzo ZENONI

Da tempo è stato notato il fatto che, dopo un'abbondante sottrazione di sangue o in seguito a ripetute emorragie compaiono dei globuli rossi nucleati nel sangue. Lo stesso fatto è stato osservato in diversi stati patologici (anemie gravi, anemia perniciosa, leucemia), come pure sperimentalmente dopo iniezioni di proteine batteriche (Rieder (10)) o di liquidi putrefatti (Timofeiewsky (11)) e dopo l'estirpazione della milza (Rieder (10), Limbeck, Orlando). Contro l'opinione di molti autori (Ehrlich, Lyon, Bizzozero, Neumann, Rieder, ecc.), Hayem (8) sostiene che la presenza dei globuli rossi nucleati nel sangue è rara, avendo notato che essi si trovano scarsissimi negli animali in stato di anemia grave, mentre mancano affatto negli animali dopo il salasso.

In generale sembra che, perchè si verifichi il fatto, occorra una sottrazione di sangue abbondante o piuttosto ripetuta, e inoltre che *trascorrano alcuni giorni dal salasso.*

Ora, egli era interessante di vedere, se in ogni caso si richiedano queste condizioni o se piuttosto i globuli rossi nu-

cleati possano comparire in circolo *per il solo fatto di avere diminuita con un salasso la massa sanguigna, prima che si possa parlare di reazione ematopoetica.* L'interesse che ha in sè la questione riguarda il significato dei globuli rossi nucleati nel sangue circolante, e la relazione che può esservi tra questi e il ritorno della ematopoesi splenica, che venne osservata (3) (4) in alcune specie animali dopo ripetuti salassi.

Io mi occupai di questo quesito nel Laboratorio diretto dal Prof. Bizzozero, al quale porgo le mie sentite grazie.

Data la delicatezza dell'indagine, trattandosi talvolta di constatare la presenza di un solo globulo rosso nucleato in due o tre preparati, io mi sono attenuto ad un accurato metodo di esame del sangue.

Scelsi cani, cavie e conigli adulti, i quali in condizioni normali non hanno globuli rossi nucleati circolanti. Prima dell'esperimento però, negli esami del sangue che facevo per ciascun animale, io mi assicuravo che mancassero completamente, e non ho mai notato che se ne trovassero nelle cavie non salassate, come asserisce Hayem. Riferendomi al rapporto tra il peso dell'animale e quello della sua massa sanguigna ($^1/_{12}$ per il cane, $^1/_{19}$ per la cavia e il coniglio) estraevo in una sola volta dalla carotide una quantità di sangue variabile da $^1/_4$-$^1/_3$, di rado $^1/_2$, del volume totale di esso, sempre però in proporzioni tali che l'animale non mostrava di risentirne.

Subito dopo l'operazione e ad ore diverse nella prima giornata e nelle successive facevo dei preparati di sangue estratto dall'orecchia ben rasata e pulita. Alcuni li trattavo secondo il metodo Bizzozero (soluz. di *Na Cl* e violetto di metile); ma il più delle volte mi servii di quest'altro processo.

Disteso e poi fissato il sangue sui vetrini mediante il rapido essiccamento e l'immersione in una miscela di alcool ed etere a parti eguali, praticavo successivamente la colorazione con ematossilina Bizzozero (2'-3') e quindi, previa lavatura in acqua, con eosina glicerinata (4'-5'). Tale processo esclude la possibilità di scambiare con i veri globuli rossi nucleati taluni lin-

fociti piccoli a nucleo molto colorato e col protoplasma debolmente tinto dall'eosina. Infatti i rossi nucleati si distinguono da quelli perchè hanno un nucleo uniformemente ed intensamente colorato in violetto, e che appare piccolo relativamente alla zona periferica di protoplasma alquanto rifrangente e tinta fortemente dall'eosina. Ogni volta esaminavo due o tre preparati che facevo scorrere tutti quanti mediante il tavolino regolatore Calliano.

Orbene in tutte le mie esperienze (5 cavie, 4 cani, 2 conigli) ho trovato che *il sangue degli animali conteneva già a distanza di 24-48 ore dal salasso alcuni globuli rossi nucleati.* In un preparato se ne riscontravano talvolta uno, talvolta due o più, e contemporaneamente alla loro comparsa si notava una leucocitosi non molto intensa.

Nel corso delle esperienze ho notato che si verificava una certa anticipazione nella comparsa dei globuli rossi nucleati quando la sottrazione del sangue era stata più copiosa e quanto più il soggetto era giovane.

Desideravo vedere se per l'uomo si verificava lo stesso fatto, ma sfortunatamente non lo potei fare che sopra due casi, l'uno di metrorragia in una puerpera, e l'altro di emorragia accidentale in un giovane durante un atto operativo su parti molli (angioma allo scroto). Nel primo caso comparvero i primi globuli rossi nucleati, nel sangue che estraevo dal dito, soltanto al 6° giorno; mentre nel secondo caso un paio di giorni prima.

Tutti i globuli che ho potuto osservare erano ben conservati, di dimensioni ordinarie (normoblasti), nessuno nello stadio di cariocinesi. Non vidi mai quei rossi irregolari, più grandi (fino a 18 μ) e più pallidi del normale, che sarebbero i neoformati; ai quali adesso si annette un grande significato diagnostico, e che sono conosciuti col nome di Gigantoblasti.

Credo che nessuno finora abbia notato che, anche in condizioni non difficili nè rare possono comparire in circolo i globuli rossi nucleati. H. Rieder (10) a proposito della leucocitosi postemorragica osserva che in tre cani sottoposti ad un

forte salasso vide comparire dei globuli rossi nucleati nel sangue. Nel I° ($^2/_3$ di sangue ed equivalente trasfusione di *NaCl*) al 3° giorno; nel II° ($^1/_2$ di sangue) al 2° giorno; nel III° ($^2/_3$ di sangue ed equivalente trasfusione di *NaCl*) dopo 1 giorno. Ma nelle esperienze di Rieder i salassi furono molto abbondanti, e in esse è data nessuna interpretazione al fatto della comparsa rapida dei globuli rossi nucleati nel sangue. Dalle mie esperienze invece risulta il fatto che possono bastare anche *leggieri salassi* a far comparire globuli rossi nucleati nel circolo *a poca distanza dall'operazione.*

Il fatto dunque della poca gravità dell'emorragia come pure quello del breve lasso di tempo intercorso inducono ad escludere la possibilità che lo stimolo dovuto alla perdita sanguigna abbia agito sui focolai ematopoetici. La conclusione più naturale che si può trarre è questa, che è bastato il fatto solo di avere diminuita con un salasso la massa sanguigna per avere la comparsa dei globuli rossi nucleati in circolo. In appoggio di questa interpretazione stanno alcune osservazioni che io (12) ho raccolto in altre mie ricerche intorno all'origine delle varie forme dei globuli bianchi del sangue. In cani sottoposti a ripetuti salassi e a successive trasfusioni di sangue defibrinato io ho notato la costante comparsa di globuli rossi nucleati nel sangue, già durante l'operazione o poco dopo di essa, entro un periodo di 3-4 ore. Ora qui, data la rapidità dei fenomeni non vi ha assolutamente luogo a pensare ad una reazione ematopoetica, ma con tutta probabilità si tratta di un fenomeno puramente meccanico dovuto alle ripetute diminuzioni della massa sanguigna (*).

I risultati ottenibili da una sola sottrazione di sangue non sono altrettanto pronti e spiccati, perchè il minimo tempo ne-

---

(*) Basterebbero forse anche le forti sottrazioni di siero a determinare nel circolo la comparsa di globuli rossi nucleati. Così Timofeiewsky (11) ha trovato che le iniezioni di liquidi putrefatti nei cani determinano una forte trasudazione sierosa, per cui il liquido putrido viene presto eliminato e il sangue si ispessisce. Contemporaneamente compaiono con grande rapidità molti globuli rossi nucleati, il cui numero è tanto maggiore quanto più pronunciati i fatti di vomiti *sanglants*, melena, ecc.

cessario alla comparsa dei globuli rossi nucleati in una cavia, sottoposta ad un salasso equivalente a $^1/_4$ circa del volume sanguigno, fu di 20 ore. Si potrebbe sospettare che in questo intervallo abbia avuto campo di aumentare la produzione dei globuli rossi nucleati, per cui non possa trattarsi più di un fenomeno meccanico. Bisogna però ricordare che, quando si sottrae il sangue abbondantemente, il ritorno del liquido alla quantità normale richiede 3-4 giorni, entro i quali molti elementi possono venire continuamente trasportati nel circolo.

Per quanto riguarda i globuli rossi nucleati nel sangue è lecito attribuire una grande importanza alle modificazioni circolatorie del midollo delle ossa, sia perchè questa è l'unica sede dei globuli rossi nucleati nell'adulto, sia perchè possiede una ricca rete vascolare che in diverse condizioni si presenta notevolmente modificata (Bizzozero e Torre) (4) (5).

Come ha scoperto Bizzozero (1) (2) pel primo (1868) già normalmente nel midollo osseo degli animali adulti e sani (uomo, cane, cavia, coniglio, vitello, ecc.) si trova un numero notevole di globuli rossi in scissione. La riparazione normale del sangue si compie dunque *in situ* per proliferazione degli elementi nucleati preesistenti, dai quali hanno origine i globuli rossi giovani. Il destino di questi può essere diverso, in quanto che alcuni soggiacciono alla loro volta alla scissione indiretta ed aumentano così il numero dei globuli rossi giovani; altri invece perdono il nucleo e si trasformano gradatamente nei globuli rossi perfetti; altri infine possono venire trasportati dalla corrente sanguigna prima di essersi completamente evoluti.

Il significato che si attribuisce generalmente alla comparsa dei globuli rossi nucleati nel sangue è quello di una mantenuta attività della sanguificazione (Ehrlich) o di una reazione ematopoetica o di uno scompiglio nell'apparato ematopoetico. Nel caso invece delle mie esperienze, in cui è dimostrata l'influenza della diminuzione della massa sanguigna, credo che si possa riferire ad un fatto meccanico dovuto a modificazioni circolatorie. Esso infatti si verifica già prima

che la produzione globulare del midollo osseo venga eccitata a maggiore attività, mentre non si verifica più o quasi alcuni giorni dopo un'abbondante sottrazione di sangue o a distanza di 8-10 giorni da ripetuti salassi, quando appunto la reazione ematopoetica è nella massima intensità.

Un argomento in favore si può desumere anche dai caratteri istologici dei globuli rossi da me costantemente osservati (normoblasti). Il non avere mai trovato nel sangue le forme dette Gigantoblasti dimostrerebbe che nel caso mio il midollo funzionava regolarmente.

Si potrebbero dunque distinguere due momenti nel periodo postemorragico, l'uno meccanico, l'altro reattivo. Il primo costituito dall'afflusso meccanico di liquidi e di elementi nel circolo succede subito dopo la perdita sanguigna; il secondo invece richiede alcuni giorni ed è caratterizzato da un numero di elementi giovani e in cariocinesi nel midollo, maggiore della norma. Per deboli salassi la reazione non arriva più in là; ma negli animali in cui si siano praticati ripetuti salassi se ne risente anche la milza, la quale, come è stato dimostrato da Bizzozero e Salvioli (3), Pellacani, Foà (6) (7), riacquista la funzione ematopoetica, propria dell'età embrionale.

Siccome in tutti i casi in cui la corrente sanguigna generale contiene globuli rossi nucleati, è facile constatarne la presenza nella milza, Hayem (8) ha pensato che gli ematoblasti nucleati provengono abitualmente dalla milza ed eccezionalmente dal midollo. Per lo stesso motivo Neumann (9) ha contraddetto all'ematopoesi splenica sostenendo che i rossi nucleati presenti nella milza hanno lo stesso significato di quelli sparsi per il circolo sanguigno, di elementi cioè trasportativi dal midollo delle ossa. Contro l'asserzione di Hayem sta il fatto che nella milza adulta dei mammiferi (fatta qualche eccezione per le cavie) non si trovano globuli rossi nucleati, nè quindi possono provenire dal parenchima splenico, perchè i globuli nucleati originano da elementi simili, e questi nell'adulto si trovano soltanto nel midollo. L'altra asserzione

di Neumann è stata confutata dalle ricerche di Bizzozero (2) (3), il quale ha comprovato che la milza di animali salassati ripetutamente presenta dopo alcuni giorni un numero di globuli rossi nucleati quasi eguale a quello del midollo e tra essi molte forme di cariocinesi; mentre contemporaneamente nel sangue circolante queste cellule sono scarsissime o mancano affatto.

Dalle ricerche che io ho esposto è lecito trarre un argomento per spiegare come si operi questo ritorno della milza allo stato embrionale. Vedemmo che il focolaio naturale da cui derivano i globuli rossi nucleati è il midollo delle ossa, e che un certo numero di essi lo abbandonano ogniqualvolta si diminuisca in modo sensibile la massa sanguigna. Un salasso solo, quand'anche forte, non fa che determinare nella milza come nel circolo generale la comparsa di pochi globuli rossi giovani; se però ad un primo salasso se ne aggiungono altri è chiaro che ne arriverà dal midollo un numero maggiore. Difatti Bizzozero e Salvioli (3) hanno notato che la presenza dei rossi nucleati nella milza è in un certo rapporto di quantità con la quantità del sangue estratto, e adesso noi possiamo aggiungere *con le diverse diminuzioni avvenute della massa sanguigna.*

Ora nulla di più probabile che questi elementi nucleati in numero ragguardevole soffermandosi in varî punti della milza e moltiplicandosi costituiscano i primi focolai di produzione splenica dei globuli rossi.

In tal guisa il ridestarsi dell'ematopoesi splenica trova una spiegazione logica e naturale nella comparsa dei globuli rossi nucleati in circolo per il semplice fatto della ripetuta diminuzione della massa sanguigna. Da questi elementi giovani soffermatisi deriva poi per un processo locale di scissione la grande quantità dei globuli rossi nucleati che è facile constatare nella milza funzionante.

Letteratura.

(1) Bizzozero, « Sul midollo delle ossa » (*Morgagni*, 1869, Napoli).
(2) Bizzozero, « Sulla produzione dei globuli rossi del sangue nella vita extrauterina », Torino, 1881.
(3) Bizzozero e Salvioli, « Ricerche sperimentali sull'ematopoesi splenica » (*Arch. per le scienze med.*, vol. IV, n. 2).
(4) Bizzozero e Torre, « Sulla produzione di globuli rossi nelle varie classi dei vertebrati » (*R. Accad. dei Lincei*, 1883-84, Roma).
(5) Bizzozero, « Nouvelles recherches sur la moelle osseuse dans les oiseaux » (*Arch. It. de Biologie*).
(6) Foà e Salvioli, *Arch. per le Scienze med.*, vol. IV.
(7) Foà, « Nota sull'Ematopoesi » (*Arch. per le Scienze med.*, vol. V).
(8) Hayem, « Du Sang », Paris, 1889.
(9) Neumann, « Ueber Blutregeneration und Blutbildung » (*Zeitschr. f. klin. Medicin*, B. III).
(10) H. Rieder, « Beiträge zur Kenntniss der Leukocytose » (*Arb. aus d. Med. Klin. Inst. zu München*, B. III).
(11) Timofeiewsky, « Des Ematies nuclées « (*Ann. de Micrographie*, n. 4, 1894).
(12) C. Zenoni, Comunicazione XI Congresso Medico Internazionale, Roma, 1894.